

Anti-inflammatory Activity of Camellia sinensis, I. Extract Cream Combined with Vitamin C as Antioxidant on Croton Oil-induced Inflammation in Male Mice Strain BALB/C

By NINING SUGIHARTINI

Anti-inflammatory Activity of *Camellia sinensis*, I. Extract Cream Combined with Vitamin C as Antioxidant on Croton Oil-induced Inflammation in Male Mice Strain BALB/C

Daya Anti-Inflamasi Krim Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan Vitamin C sebagai Antioksidan pada Mencit Jantan Galur Balb/C yang Diinduksi Croton Oil

Nining Sugihartini^{1*}, Ratih Saridewi², Ulfa Ramdhani M², Fitri Rahmawanti², Sapto Yuliani¹, Vivi Sophia¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

²Mahasiswa Sarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

ABSTRACT

Green tea extract cream contains epigallocatechin gallate (EGCG) as the active ingredient for anti-inflammatory. Epigallocatechin gallate is easily oxidized and able to reduce its effectivity as an anti-inflammatory. Therefore, an addition of antioxidants in order to increase its stability is required. The purpose of this study was to determine the effect of adding the antioxidant Vitamin C on the effectivity of green tea extract as an anti-inflammatory. This study uses 6 groups of male mice strain BALB/C which were given treatment as follows: normal control, negative control, base cream, green tea extract (0.2%), Vitamin C cream (1%) and green tea extract cream with addition of Vitamin C. The anti-inflammatory activity was evaluated based on the expression of COX-2, inflammatory cells and the thickness of the epidermis in the skin tissue of mice after given croton oil (0.1%) on the back for the induction of inflammation. After treatment cream for 3 days, mice were sacrificed for histopathological tissue preparations made with hematoxylin eosin staining and immunohistochemistry COX-2. Data were analyzed statistically with one way Anova followed by t-test to determine differences between groups at a significance level of 0.05. The test results indicate that cream of green tea extract is higher in decreasing inflammatory parameters in comparison with cream of Vitamin C, except in the thickness of epidermal parameter. Green tea extract cream with the addition of Vitamin C is higher in reducing inflammatory parameters than cream of green tea extract or cream of Vitamin C. The decline percentage of cells that express COX-2, inflammatory cells and the thickness of the epidermis in the each of groups were cream of green tea extract: 57.95%; 53.75%; 34.83%, cream of Vitamin C: 48.76%; 34.96%; 34.27%, cream of green tea extract and Vitamin C: 61.89%; 65.54%; 46.30%, respectively. Based on the results of this study, it can be concluded that anti-inflammatory activity of green tea extract cream increased due to the addition of 1% vitamin C as an antioxidant.

Keywords: Green tea extract, vitamin C, cream, anti-inflammatory, COX-2, inflammatory cells, thickness of the epidermis

ABSTRAK

Krim ekstrak teh hijau mengandung bahan aktif epigalokatekin galat sebagai anti-inflamasi. Epigalokatekin galat mudah mengalami oksidasi yang dapat menurunkan aktivitasnya sebagai anti-inflamasi. Oleh karena itu diperlukan penambahan antioksidan untuk meningkatkan stabilitasnya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan antioksidan Vitamin C terhadap efektivitas ekstrak teh hijau sebagai anti-inflamasi. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok mencit jantan galur BALB/C yang mendapatkan perlakuan sebagai berikut : kontrol normal, kontrol negatif, basis krim, krim ekstrak teh hijau (0,2%), krim Vitamin C (1%) dan krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C. Aktivitas anti-inflamasi dievaluasi berdasarkan ekspresi COX-2, sel radang dan ketebalan epidermis pada jaringan kulit mencit setelah diberi croton oil (0,1%) pada bagian punggungnya untuk induksi inflamasi. Setelah perlakuan krim selama 3 hari, mencit dikorbankan untuk dibuat preparat histopatologik jaringan kulit dengan pengecatan hematoxilin eosin dan imunohistokimia COX-2. Data dianalisis statistik dengan uji Anova satu jalan kemudian dilanjutkan dengan uji t untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada

Correspondence author: Nining Sugihartini
Email : nining.sugihartini@pharm.uad.ac.id

tingkat signifikansi 0,05. Hasil uji menunjukkan bahwa krim ekstrak teh hijau lebih tinggi dalam menurunkan parameter inflamasi dibandingkan dengan krim Vitamin C, kecuali pada parameter tebal epidermis. Krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C paling tinggi dalam menurunkan parameter inflamasi dibandingkan krim ekstrak teh hijau atau krim Vitamin C. Persentase penurunan jumlah sel dengan ekspresi COX-2, sel radang dan ketebalan epidermis secara berturut-turut untuk tiap kelompok adalah sebagai berikut krim ekstrak teh hijau: 57,95%; 53,75%; 34,83%, krim Vitamin C: 48,76%; 34,96%; 34,27%, Krim ekstrak teh hijau dan 2% vitamin C: 61,89%; 65,54%; 46,30%. Berdasarkan hasil uji dapat disimpulkan bahwa aktivitas antiinflamasi krim ekstrak teh hijau meningkat dengan penambahan Vitamin C 1% sebagai antioksidan.

Kata kunci: ekstrak teh hijau, vitamin C, krim, anti-inflamasi, COX-2, sel radang, ketebalan epidermis

PENDAHULUAN

Senyawa polifenol khususnya EGCG diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Sebagai senyawa antioksidan dan antiinflamasi, salah satu aktivitas EGCG adalah menghambat ekspresi COX-2 di tingkat transkripsi (Shimizu dkk., 2005; Kumar dkk., 2007). COX-2 sendiri merupakan suatu mediator nyeri berupa enzim yang terinduksi pada sel yang mengalami inflamasi (Simmons dan Moore, 2000). Mekanisme EGCG dalam menghambat inflamasi adalah dengan menghambat aktivitas NF- κ B⁵ (Butt dan Sultan, 2009), MMP-2, MMP-9, MMP-12 (Dona dkk., 2003) dan AP-1 (Tippoe dkk., 2007).

Bioavailabilitas EGCG secara peroral cukup rendah yaitu kurang dari 5% (Fang dkk., 2007). Aplikasi langsung pada tempat yang mengalami inflamasi diharapkan akan mempercepat proses penyembuhan (Sugihartini dkk., 2013^a). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa EGCG memiliki bioavailabilitas dan stabilitas yang rendah (Fang dkk., 2007). Berdasarkan hal tersebut maka telah dilakukan pengembangan formulasi ekstrak teh hijau dalam bentuk sediaan krim untuk menghindari efek lintas pertama dan penambahan enhancer untuk meningkatkan kemampuan penetrasi EGCG menembus lapisan kulit (Sugihartini dkk., 2011). Selain itu untuk meningkatkan stabilitasnya maka dalam formulasi krim ditambahkan antioksidan Vitamin C (Sugihartini dkk., 2013^b).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan vitamin C sebesar 1% mampu meningkatkan stabilitas EGCG dalam krim ekstrak teh hijau (Sugihartini dkk., 2013^b). Penambahan vitamin C juga diharapkan mampu meningkatkan kualitas sediaan krim ekstrak teh hijau sebagai antiinflamasi, terutama karena keduanya memiliki mekanisme yang sama yaitu menghambat aktivitas NF- κ B dan menghambat ekspresi COX-2 (Telang, 2013; Lee dkk., 2008). Formulasi baru ini memerlukan berbagai evaluasi untuk menentukan pengaruh penambahan Vitamin C ke dalam formula. Kemampuan EGCG dan Vitamin C sebagai anti-inflamasi dievaluasi

dengan parameter ketebalan epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 pada jaringan kulit inflamasi mencit yang diinduksi *crotton oil*.

23

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah daun teh hijau (diperoleh dari PT. Pagilaran Yogyakarta yang berasal dari kebun teh di daerah Batang Jawa Tengah pada ketinggian 700-1600 m dari tanaman teh dengan umur 5-25 tahun yang diidentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik di Laboratorium Biologi F MIPA UAD), akuades, dan etil asetat pa. Sedangkan bahan yang digunakan dalam pembuatan krim dengan kualitas farmasetis adalah asam stearat, setil alkohol, stearyl alkohol, trietanol amin, gliserin, asam sitrat, metil paraben, asam oleat, propilen glikol, tween 80, span 80, Vitamin C dan minyak atsiri temulawak (Sigma). Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi, infus, alat gelas, Rotaevaporator (Buchi), mikroskop (Olympus).

Hewan Uji

Sebanyak 36 ekor mencit 180 g betina dewasa, galur BALB/C (25-30 g) diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), UGM. Mencit diadaptasikan selama 6 hari sebelum perlakuan. Mencit dipelihara dalam kandang plastik berukuran 30x40 cm (satu kandang untuk 6 ekor), dengan suhu kamar 24-26 °C, kelembaban 60-65%, dan mendapatkan siklus cahaya terang gelap 12 jam. Pakan dan minum tersedia *ad libitum*.

Tahap Kerja

Pembuatan ekstrak teh hijau

Ekstrak teh hijau diperoleh dengan metode infundasi dan dilanjutkan fraksinasi menggunakan etil asetat sebanyak 3 kali. Fraksi kemudian dikentalkan dan diuapkan sampai kering sehingga diperoleh ekstrak kering teh hijau (Row and Jin, 2006; Sugihartini dkk., 2013^a).

Tabel I. Formula Basis Krim, Krim Ekstrak Teh Hijau, Krim Vitamin C dan Krim Teh Hijau dengan Penambahan Vitamin C

12				
Nama Bahan	F I (g)	F II (g)	F III (g)	F IV (g)
Ekstrak teh hijau	0	0	0,20	0,20
Asam stearat	5,14	5,14	5,14	5,14
Setil alkohol	2,75	2,75	2,75	2,75
Steril alkohol	5,14	5,14	5,14	5,14
Trietanolamin	1,28	1,28	1,28	1,28
Gliserin	7,72	7,72	7,72	7,72
Asam sitrat	0,64	0,64	0,64	0,64
Metil paraben	0,25	0,25	0,25	0,25
Asam oleat	6,04	6,04	6,04	6,04
Propilen glikol	7,17	7,17	7,17	7,17
Minyak atsiri Temulawak	6,79	6,79	6,79	6,79
Tween 80	10	10	10	10
Span 80	1	1	1	1
Vitamin C	0	1	0	1
Air	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL

Keterangan: a. Formula I : Sediaan krim yang terdiri atas basis; b. Formula II : Sediaan krim yang terdiri atas basis dan vitamin C; c. Formula III : Sediaan krim yang terdiri atas basis dan Ekstrak Teh Hijau; d. Formula IV: Krim optimal dengan antioksidan dan vitamin C serta Ekstrak Teh Hijau

Pembuatan sediaan

Krim ekstrak teh hijau dibuat dengan mengacu pada hasil penelitian sebelumnya (Tabel I) (Sugihartini dkk., 2013^a). Krim dibuat dengan metode peburan yang diawali dengan melelehkan bahan yang bersifat larut dalam minyak (lelehan 1), yaitu asam stearat, setil alkohol, stearil alkohol, asam sitrat, span 80 dan asam oleat, di atas *waterbath* pada suhu 75° C. Sementara itu untuk bahan yang bersifat larut dalam air (lelehan 2) juga dilelehkan dengan suhu yang sama dalam wadah yang berbeda, yaitu vitamin C, trietanolamin, gliserin, metil paraben, tween 80, dan propilen glikol di atas *waterbath*. Selanjutnya kedua lelehan dicampurkan di atas mortir hangat dan diaduk sampai homogen. Terakhir ditambahkan ekstrak teh hijau dan minyak atsiri temulawak ketika krim sudah terbentuk dan sudah dalam keadaan dingin.

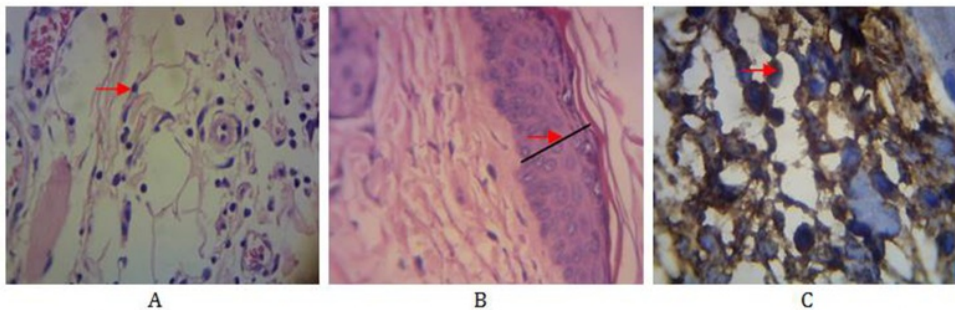
Uji anti-inflamasi

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 6 ekor mencit. Enam kelompok tersebut meliputi kelompok kontrol normal yaitu kelompok yang tidak mendapat perlakuan apapun dan 5 kelompok yang pada awalnya diberi induksi inflamasi dengan *croton oil* serta mendapat perlakuan basis krim (F1), krim ekstrak teh hijau (F2), krim Vitamin C (F3) dan krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C (F4) serta

kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan sediaan (kontrol negatif)

Kelompok yang mendapat induksi inflamasi sebelumnya dicukur rambut bagian punggung dan diolesi perontok rambut (*Veet*). Setelah 24 jam, pada bagian punggung tersebut ditetesi dengan 0,1 ml *croton oil* (4%) dan 30 menit kemudian dilakukan pengolesan basis krim, krim ekstrak teh hijau, krim Vitamin C dan krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C sebanyak 100 mg setiap hari selama 3 hari. Selanjutnya mencit dikorbankan dan dilakukan dislokasi servik. Jaringan kulit kemudian diambil dan direndam dalam formalin 10% untuk pembuatan preparat histopatologik dengan pengecatan hematoksin eosin (HE) dan imunohistokimia COX-2 yang dilakukan sesuai metode standar di Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran, UGM dan Laboratorium Patologi Anatomi, RS. Dr. Sardjito, Yogyakarta (Sugihartini dkk., 2013^a).

Penghitungan jumlah sel radang dilakukan terhadap preparat histopatologik yang dicat dengan HE. Jumlah sel radang dihitung pada tiga bidang pandang dari tiap irisan jaringan kulit tiap hewan uji. Perhitungan sel radang dapat diketahui dengan adanya bercak berwarna coklat kehitaman. Ketebalan epidermis diukur berdasarkan rerata jarak antara lapisan epidermis terdalam dengan terluar yang diukur dari tiga bidang pandang dari tiap irisan jaringan kulit tiap hewan uji.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis jaringan kulit dengan pengecatan hematoksin eosin (HE) (A) sel radang, (B) ketebalan epidermis dan (C) sel yang mengekspresikan COX-2 dengan pengecatan imunohistokimia

Tabel II. Hasil Uji Daya Anti-inflamasi Krim Ekstrak Teh Hijau, Krim Vitamin C dan Krim Ekstrak Teh Hijau dengan Penambahan Vitamin C pada Hewan Uji Mencit Jantan Galur BALB/C (N=6)

Kelompok	Ketebalan Epidermis (μm)	Jumlah Sel Radang	Jumlah Sel ekspresi COX-2
Kontrol normal	38,75 \pm 14,21	33,78 \pm 6,20	22,78 \pm 1,32
Kontrol negatif	126 \pm 4,82	178,00 \pm 22,64	82,33 \pm 1,64
Kontrol basis	95,58 \pm 8,35	119,33 \pm 35,61	68,63 \pm 3,08
Krim Ekstrak Teh Hijau 0,2%	128 \pm 4,39	82,33 \pm 9,67	34,62 \pm 2,94
Krim Vitamin C 1%	117 \pm 5,81	115,78 \pm 9,44	42,19 \pm 6,17
Krim Ekstrak Teh Hijau (0,2%)+ Vitamin C (1%)	116 \pm 7,86	59,56 \pm 15,06	31,38 \pm 2,57

Penghitungan jumlah sel yang mengekspresikan COX-2 dilakukan dengan perbesaran 400x pada tiga bidang pandang pada tiap irisan jaringan kulit tiap hewan uji, berdasarkan jumlah sel yang menunjukkan warna coklat pada sitoplasma atau intinya. Perhitungan tersebut dilakukan setelah preparat jaringan kulit diberi pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi *polyclonal* COX-2. Pengamatan dan pengukuran mikroskopik semua dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang telah dihubungkan dengan *optilab*.

Analisis data dan statistik

Data sel yang mengekspresikan COX-2 dihitung persentase ekspresinya dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Ekspresi} = \frac{\text{Jumlah sel yang terekspresi}}{\text{jumlah total sel}} \times 100\%$$

Hasil persentase pengamatan terhadap preparat IHC, jumlah sel radang dan ketebalan epidermis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dianalisis dengan menggunakan program statistika ver.16. Beda nyata antar

perlakuan diuji dengan *one way* ANOVA. Jika dari hasil uji ANOVA ditemukan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Test LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan. Signifikansi hasil ditetapkan dengan $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil uji daya anti-inflamasi (Tabel II). Hasil pengecatan preparat dengan HE dan imunohistokimia COX-2 (Gambar 1). Data menunjukkan bahwa ketebalan epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 pada kontrol normal adalah yang paling sedikit. Hal ini berlawanan dengan data pada kelompok kontrol negatif yang menerima perlakuan menggunakan senyawa penginduksi 0,1 ml *croton oil* dengan konsentrasi larutan 4%. *Croton oil* diketahui memiliki sifat *irritant* dan mampu menyebabkan inflamasi, sehingga minyak ini dipilih sebagai induktor inflamasi (Lan dkk., 2012). *Croton oil* memiliki mekanisme mengaktifasi fosfolipase A2 yang selanjutnya mengeluarkan asam arakidonat dari membran sel. Asam arakidonat ini kemudian dimetabolisme menjadi prostaglandin dan leukotrin (Shah dkk.,

Tabel III. Persentase Penurunan Tebal Epidermis, Jumlah Sel radang dan Jumlah Sel Ekspresi COX-2 pada Hewan Uji Mencit Jantan Galur BALB/C (N=6) yang Diinduksi Inflamasi setelah Perlakuan Krim Ekstrak Teh Hijau, Krim Vitamin C dan Krim Ekstrak Teh Hijau dengan Penambahan Vitamin C

	Krim Ekstrak Teh Hijau 0,2%	Krim Vitamin C 1%	Krim Ekstrak Teh Hijau (0,2%)+ Vitamin C (1%)
Tebal Epidermis (µm)	-0,02 ± 4,6%	34,27 ± 5,92%	46,30 ± 6,34%
Jumlah Sel Radang	52,68 ± 10,64%	20,52 ± 12,51%	66,43 ± 7,24%
Jumlah Sel Ekspresi COX-2	58,06 ± 4,76%	47,64 ± 13,60%	61,76 ± 6,55%

2011). Berdasarkan hasil uji statistik terdapat perbedaan ketebalan epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 yang bermakna antara kelompok kontrol normal dengan kontrol negatif (mendapatkan induksi inflamasi saja tanpa pemberian sediaan) ($p < 0,05$). Dengan adanya perbedaan yang bermakna ini maka metode induksi tersebut dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas anti-inflamasi formula krim yang dibuat.

Kelompok kontrol basis berfungsi untuk mengevaluasi potensi basis krim sebagai anti-inflamasi. Gambaran mikroskopik dari kelompok kontrol basis krim menunjukkan ketebalan epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel ekspresi COX-2 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol normal dengan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan yang terdapat di dalam basis krim tidak memberikan aktivitas antiinflamasi yang optimal terhadap jaringan kulit mencit BALB/C. Hal ini didukung pula oleh hasil perbandingan dengan kontrol negatif di mana kelompok basis memberikan perbedaan yang tidak bermakna pada parameter ketebalan epidermis dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2.

Kelompok perlakuan yang pertama adalah kelompok hewan uji yang diberi perlakuan induksi inflamasi dengan *croton oil* dilanjutkan dengan perlakuan pengolesan krim dengan penambahan Vitamin C 1%. Dalam formulasi krim anti-inflamasi ekstrak teh hijau ini, tujuan penambahan vitamin C adalah sebagai antioksidan untuk menjaga stabilitas krim dalam penyimpanan (Zieve, 2009). Penambahan Vitamin C pada basis krim ternyata mampu menurunkan tebal epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 apabila dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Penurunan yang bermakna tersebut menunjukkan bahwa Vitamin C memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi. Namun demikian penurunan tersebut masih belum mampu memberikan kondisi yang sama dengan kontrol normal karena masih ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Kelompok perlakuan yang kedua adalah kelompok hewan uji yang diinduksi dengan *croton oil* kemudian dilanjutkan dengan pengolesan menggunakan krim ekstrak teh hijau. Pemberian krim ternyata mampu menurunkan secara bermakna jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 di bandingkan kontrol negatif. Kandungan polifenol EGCG yang terdapat dalam teh hijau dimanfaatkan sebagai komponen utama yang memberikan aktivitas antiinflamasi dalam formulasi krim (Saryono, 2013). EGCG merupakan komponen katekin yang terbanyak dalam tanaman teh hijau yaitu sekitar 48%-55% dari total katekin (Cabrera dan Gimenez, 2006). EGCG mampu menghambat ekspresi COX-2 (Shimizu dkk., 2005). Kemampuan menghambat ekspresi COX-2 ini disebabkan adanya kemampuan menekan aktivitas NF-κB dan sinyal ekstraseluler yang diatur oleh protein kinase (K). EGCG juga dapat menekan ekspresi dari *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan *nitric oxide* (NO) sehingga dapat memperbaiki kerusakan sel akibat inflamasi (Tipoe dkk., 2007). Namun demikian hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok krim yang diberi penambahan ekstrak teh hijau berbeda bermakna dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Hal ini kemungkinan disebabkan masa pengolesan krim baru selama 3 hari sehingga efek penyembuhan inflamasinya belum maksimal. Apabila dibandingkan antara kelompok krim teh hijau dan kelompok krim Vitamin C maka penurunan jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 lebih besar pada kelompok krim teh hijau. Hal ini terutama terlihat pada parameter jumlah sel radang yang memberikan perbedaan yang bermakna. Ini berarti aktivitas anti-inflamasi ekstrak teh hijau masih lebih tinggi dibandingkan Vitamin C.

Kelompok perlakuan terakhir adalah kelompok hewan uji yang diberikan induksi inflamasi dengan *croton oil* dan dilanjutkan dengan pengolesan krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C 1%. Gambaran mikroskopis kelompok ini memperlihatkan penurunan ketebalan epidermis, jumlah sel

radang dan ekspresi COX-2 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok krim teh hijau dan kelompok Vitamin C seperti disajikan pada tabel III. Hasil uji statistik antara kelompok ini dengan kontrol normal pada parameter jumlah sel dengan ekspresi COX-2 menunjukkan hasil berbeda tidak signifikan ($p>0,05$). Sedangkan hasil uji statistik dengan kontrol negatif memberikan hasil berbeda bermakna ($p<0,05$). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C 1% memberikan aktivitas antiinflamasi yang lebih optimal karena mampu menurunkan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 sampai pada kondisi yang tidak berbeda bermakna dengan kontrol normal. Kombinasi keduanya ternyata mampu meningkatkan aktivitas anti-inflamasi karena pada komposisi krim yang hanya mengandung salah satu saja antara ekstrak teh hijau dan Vitamin C masih memberikan perbedaan yang bermakna dengan kontrol normal.

Hasil statistik antara kelompok krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C dengan kelompok krim Vitamin C saja menunjukkan hasil berbeda bermakna ($p<0,05$) pada parameter jumlah sel dengan ekspresi COX-2 dan ketebalan epidermis sedangkan pada sel radang tidak berbeda signifikan ($p>0,05$). Apabila dibandingkan dengan kelompok krim ekstrak teh hijau (tanpa penambahan Vitamin C) menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p>0,05$) pada parameter jumlah sel dengan ekspresi COX-2 namun berbeda bermakna pada parameter ketebalan epidermis dan sel radang. Hal tersebut semakin memperkuat bahwa penambahan komponen Vitamin C dalam krim ekstrak teh hijau memberikan efek sinergisitas yang mengakibatkan terjadinya penurunan ketebalan epidermis, jumlah sel radang dan jumlah sel dengan ekspresi COX-2 lebih optimal. Peran Vitamin C dalam formulasi ini adalah mampu meningkatkan stabilitas EGCG dalam ekstrak teh hijau (Sugihartini dkk., 2016). Kecepatan degradasi EGCG dalam krim dengan adanya antioksidan Vitamin C menurun sehingga mampu memberikan efek antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan jika tidak ada Vitamin C.

KESIMPULAN

Penambahan Vitamin C konsentrasi 1% pada krim ekstrak teh hijau mampu meningkatkan kemampuan anti inflamasi ekstrak teh hijau, nampak dengan terjadinya penurunan jumlah sel radang ($p<0,05$), tebal epidermis ($p<0,05$) dan sel dengan ekspresi COX-2 ($p>0,05$) pada inflamasi mencit jantan galur BALB/C yang diinduksi dengan *Croton Oil*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara dengan dana Hibah Bersaing DIKTI pada tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Butt, M.S dan Sultan, M.T., 2009, Green Tea: Nature's Defense against Malignancies, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(7):3-473.
- Cabrera, A.R., dan Gimenez, R., 2006, Beneficial Effect of Green Tea-a Review, *Journal of American College Nutrition*, 25:79-99.
- Dona, M., Dell'Aica, I., Calabrese, F., Benelli, R., Morini, M., Albini, A., Garbisa, S., 2003, Neutrophil Restraint by Green Tea : Inhibitor of Inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis., *Journal Immunology*, 15;170(8):4335-41.
- Fang J.Y., Tsai T.H., Lin Y.Y., Wong W.W., Wang M.N., Huang J.F., 2007, Transdermal delivery of tea catechins and theophylline enhanced by terpenes, *A mechanistic study Biological Pharmacy*, 30:343-349.
- Kumar, N., Shibata, D., Helm, J., Coppola, D., Malata, M., 2007, Green Tea Polyphenols in The Prevention of Colon Cancer, *Frontiers in Bioscience*, 12:2309-2315.
- Lan, M., Wan, P., Wang, Z.Y., Huang, X.L., 2012, Analisis GC-MS Komponen Kimia dalam Minyak Biji Croton Tiglium, *Zhong Yao Cai Journal*, 35 (7) : 1105-8.
- Lee, S.K., Kang, J.S., Jung, D.J., Hur, D.Y., Kim, J.E., Hahm, E., Bae, S., Kim, H.W., Kim, D., Cho, B.J., Cho, D., Shin, D.H., Hwang, Y.I., dan Lee, W.J., 2008, Vitamin C suppresses proliferation of the human melanoma, cell SK-MEL-2 through the inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression and the Modulation of insulin-like growth factor II (IGF-II) production, *Journal of cellular physiology*, 216 (1) : 180-188.
- Row K and Jin Y., 2006, Recovery of Catechin Compound From Korean Tea by Solvent Extraction. *Bioresource Technology*, 97:790-793
- Saryono, 2013, Potensi Teh Hijau dalam Penyembuhan Luka : Sistematis Review, *Prosiding*, Hal 202-205.
- Shah, B., Seth, A., and Maheshwari, K., 2011, A Review on Medicinal Plants as A Resource of Anti-Inflammatory Agents, *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(2): 101-115
- Shimizu, M., Deguchi, A., Joe, A.K., Mickoy, J.F., Moriaki, H., Weinstein, I.B., 2005, EGCG Inhibits Activation of HER3 and expression of Cyclooxygenase-2 in Human Colon

- Cancer Cells, *Journal Experimental Therapeutic Oncology*, 29(1), 69-78
- Simmons, D.L., dan Moore, 2000, COX-2 Inhibition, Apoptosis and Chemoprevention by Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, *Current Medicinal Chemistry*, 7, 1131-1144.
- 1 Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari, 2011, Optimization Composition of Oleic acid, Propylene glycol and Volatile Oil of *Curcuma xanthorrhiza* as Enhancer of Transport of Epigallocatechin gallat in Green Tea Extract with Simplex Lattice Design Methode, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(7) 393-395.
- Sugihartini, N., 2013^a, Optimasi Komposisi Enhancer dan Emulgator pada Formulasi Krim Fraksi Etil Asetat Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*, L) sebagai Sediaan Topikal Antiinflamasi, *Disertasi*, Program Pascasarjana Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta, 78-79
- Sugihartini, N., Zainab, Sophia, V., 2013^b, Peningkatan Efektivitas Krim ekstrak Teh Hijau sebagai Sediaan Anti-inflamasi dengan Penambahan Antioksidan, *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Sugihartini, N., Susanti, H., Zaenab, Hanifah, H., Marlina, S.A, 2016, Stabilitas Epigallocatekin galat dalam Krim Ekstrak Teh Hijau dengan Variasi Konsentrasi Antioksidan Vitamin C 1% dan Vitamin E 1%, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(2), 52-56
- Telang, Pumori Saukar, 2013, Vitamin C in Dermatology, *IDOJ*, 4(2) : 143-146.
- 5 Tipoe, G.L., Leung, T.M., Hung, M.W., Fung, M.L., 2007, Green Tea Polyphenols as an Anti-oxidant and Anti-inflammatory Agent for Cardiovascular Protection., *Cardiovascular Hematological Disorder Drug Targets*, 7 (2) : 135-44.
- Zieve, D., 2009, In Vitamin C, *MedlinePlus Medical Encyclopedia*, diakses dari <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002404.htm> pada tanggal 28 Desember 2014.

Anti-inflammatory Activity of Camellia sinensis, I. Extract Cream Combined with Vitamin C as Antioxidant on Croton Oil-induced Inflammation in Male Mice Strain BALB/C

ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	anzdoc.com Internet	114 words — 3%
2	e-journal.usd.ac.id Internet	44 words — 1%
3	Smorag, Lukasz, Ying Zheng, Jessica Nolte, Ulrich Zechner, Wolfgang Engel, and Dasaradha Venkata Krishna Pantakani. "MicroRNA signature in various cell types of mouse spermatogenesis: Evidence for stage-specifically expressed miRNA-221, -203 and -34b-5p mediated spermatogenesis regulation", Biology of the Cell, 2012. Crossref	41 words — 1%
4	www.scribd.com Internet	35 words — 1%
5	www.tandfonline.com Internet	32 words — 1%
6	media.neliti.com Internet	25 words — 1%
7	mediatum.ub.tum.de Internet	18 words — < 1%
8	repository.uinjkt.ac.id Internet	17 words — < 1%

9	repository.maranatha.edu Internet	14 words — < 1%
10	repo.unair.ac.id Internet	14 words — < 1%
11	tair.org.tw Internet	13 words — < 1%
12	176.10.59.119 Internet	12 words — < 1%
13	ar.scribd.com Internet	11 words — < 1%
14	journal.uad.ac.id Internet	11 words — < 1%
15	ejournal2.undip.ac.id Internet	9 words — < 1%
16	www.researchgate.net Internet	9 words — < 1%
17	id.scribd.com Internet	9 words — < 1%
18	fr.scribd.com Internet	9 words — < 1%
19	Sandra M. Alcalde Bahamonde, María L. Flores, Osvaldo L. Córdoba, Carlos A. Taira, Susana Gorzalczany. "Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of <i>Chiliotrichum diffusum</i> ", Revista Brasileira de Farmacognosia, 2013 Crossref	8 words — < 1%
20	Carolyn Bell. "Ellagic acid, pomegranate and prostate cancer - a mini review", Journal of Pharmacy and Pharmacology, 02/2008 Crossref	8 words — < 1%

21	ejournal-s1.undip.ac.id Internet	8 words — < 1%
22	epdf.tips Internet	8 words — < 1%
23	zh.scribd.com Internet	8 words — < 1%
24	Umi Aflaha. "KAOS HADIS SEBAGAI MEDIA DAKWAH DAN KOMUNIKASI ALTERNATIF", INJECT (Interdisciplinary Journal of Communication), 2017 Crossref	8 words — < 1%
25	garuda.ristekdikti.go.id Internet	8 words — < 1%
26	www.journal.ugm.ac.id Internet	8 words — < 1%
27	Listiani Amana, Santi Esterlita Purnamasari. "EFEKTIVITAS MENDENGARKAN BACAAN AL-QURAN TERHADAP PENURUNAN TINGKAT DEPRESI PADA LANSIA", Insight: Jurnal Ilmiah Psikologi, 2017 Crossref	6 words — < 1%
28	jpet.aspetjournals.org Internet	5 words — < 1%
29	www.frontiersin.org Internet	4 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES OFF